



TITLE:

免疫監視機構と受動免疫療法

AUTHOR(S):

笠原, 勝幸; 山室, 隆夫

CITATION:

笠原, 勝幸 ...[et al]. 免疫監視機構と受動免疫療法. 京都大学医療技術短期大学部紀要 1985, 5: 1-7

ISSUE DATE:

1985

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/49293>

RIGHT:

免疫監視機構と受動免疫療法

笠原 勝 幸, 山 室 隆 夫*

Immune Surveillance and Adoptive Immunotherapy

Katsuyuki KASAHARA, Takao YAMAMURO

ABSTRACT: Immune surveillance, which was postulated by Thomas and Burnet, is an essential host mechanism against malignant tumors. This system is considered to be composed of T-lymphocytes, natural killer cells, and macrophages. The roles and characters of these cells are explained. Many ways which stimulate the host immune system against malignant tumors have been tried experimentally and clinically. These specific and nonspecific immunotherapies are summarized herein. The prospect of the specific immunotherapy against malignant tumors, especially the adoptive transfer of immune cells to nonimmune animals, is discussed.

Key words: Immune surveillance, adoptive immunotherapy, CTL, NK cell, tumor immunity.

[1] Immune surveillance

ある体細胞が個体の調節機構を越えて、自律的に無制限な増殖を行うようになると、その宿主に有害な影響を与えるようになり、悪性新生物（癌および肉腫）と呼ばれる。悪性細胞はたいていの場合、固形の腫瘍を形成してゆく。腫瘍塊がある程度以上に大きくなると、それは臓器または組織の形態を変化させ、機能に障害を及ぼす。

このような癌細胞が特異な抗原を持ち、宿主

が移植癌細胞を非自己 (not-self) と認めて、その移植を拒絶することを Foley が 1953 年に化学発癌細胞を用いて証明した¹⁾。

Thomas は生体が悪性新生物に対して持っている自然防御の機構は、同種移植片の拒絶反応と同じものではないかと提言し²⁾, Burnet は更にこの考えを発展させた³⁾。彼は、免疫反応の主目的は微生物など体外から侵入してくる異物への防御ではなく、むしろ悪性細胞に対する監視 (immune surveillance) ではないかと考えて免疫監視説と称した。そしてその主役は T リンパ球であろうと考えた。この仮説は実験的あるいは臨床的事実から支持されたが⁴⁾, 次のような矛盾点もあきらかになった。すなわち(1) T リンパ球を先天的に持たないヌードマウスでは悪性腫瘍が多発すると予想されたが、実際には正常マウスより少ない。(2) ヒトの免疫不全症

京都大学医療技術短期大学部教養科
Division of General Education, College of Medical
Technology, Kyoto University.

* 京都大学医学部整形外科
Department of Orthopaedic Surgery, Faculty of
Medicine, Kyoto University.

1985年5月8日受付

患者に発癌率は高いが、その大部分はリンパ系腫瘍であり、疫学的に多い他の固形癌ではない。

Burnet の免疫監視説の提唱により、まず細胞傷害性 T 細胞 (cytotoxic T-lymphocytes, CTL, キラー T 細胞) が中心的役割を果たすと考えられ、精力的に検索が行われた^{5,6,7)}。キラー T 細胞は癌特異抗原に反応する T 細胞で悪性腫瘍細胞やウイルス感染細胞を生体から排除する能力を持ち、その時に自己の主要組織適合性複合体 (major histocompatibility complex, MHC) を認識する機構が働く⁴⁾。

しかし、T 細胞を欠如するヌードマウスで癌が多発しないこと、ヒト悪性腫瘍で癌特異抗原の認められるのが稀なことより、natural killer (NK) 細胞⁸⁾や活性化マクロファージも重要であると考えられるようになってきた。免疫監視機構を担うのは次のような細胞であると現在では考えられている (図 1)。

(1) キラー T 細胞^{5,6,7)}

T 細胞の中でも、癌細胞やウイルス感染細胞を特異的に傷害するよう分化した細胞であり、腫瘍特異抗原あるいはウイルス抗原を認識して、

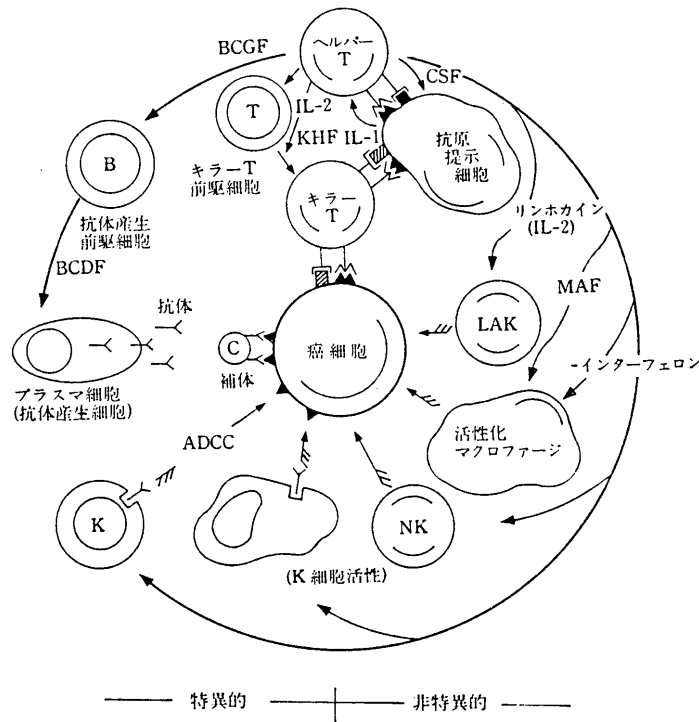


図 1 癌細胞に対する免疫監視機構

抗原認識過程の▲▲は癌抗原を、■、■は主要組織適合抗原 (マウスでは H-2K, H-2D 抗原および Ia 抗原を表す。—くは抗体、C は補体、K 細胞上の○は Fc レセプターを表す。BCGF は B 細胞増殖因子、BCDF は B 細胞分化因子でいずれもヘルパー T 細胞から分泌される。CSF はコロニー刺激因子、IL-2 はインターロイキン 2 (T 細胞増殖因子)、KHF はキラーヘルパー因子 (T 細胞分化因子)、MAF はマクロファージ活性化因子 (γ-インターフェロンと同じともいわれる)。これらはいずれもリンホカインで Lym-1⁺ 細胞 (マウス) から分泌される。IL-1 はインターロイキン 1 でマクロファージから分泌され、ヘルパー T 細胞 (Lyt-1⁺) に働くモノカインである。LAK はリンホカインで活性化されるキラー細胞でキラー T 細胞、NK 細胞とは異なったリンパ球である。ADCC は抗体依存性細胞介在性細胞障害作用。

(橋武彦: 臨床免疫 handbook, p.836, 日本臨床社, 大阪, 1984.)

それらの細胞を傷害し, 排除する能力を持つ。又, キラーT細胞は, 自己の主要組織適合性抗原を認識することから, 自己を自己として非自己から判別認識するという点で免疫反応の本質をなす細胞と考えられる。キラーT細胞が標的細胞を破壊する機構については, (1)標的細胞からの抗原刺激および補助細胞由来のT細胞活性化シグナルによるT細胞の活性化 (2)T細胞と抗原の接触によりリンフォカイン (lymphokine) を産生し, これによりマクロファージなどが活性化され, 腫瘍細胞を破壊する, 等と考える。(2) NK細胞⁸⁾

抗原の感作を必要とせず, 腫瘍細胞やウイルス感染細胞と接触すると数時間後に標的細胞を傷害することができる細胞である。悪性腫瘍に対する最初の防御をなしている。末梢白血球の2~6%を占め, 脾, リンパ節, 骨髓, 腹腔内にも存在し, 胸腺中には全く認めない⁹⁾。リンパ球より誘導することもでき, リンパ球の亜型と考えられるが, T細胞とは異なる。むしろT細胞を抑制することもある。

NK活性は非常に不安定であり, 37℃, 2時間の放置により活性を失う¹⁰⁾。Seamanは種々のホルモンのうち, β -エストラジオールが特異的にNK活性を抑制すると報告している¹¹⁾。担癌状態ではヒト, マウスともにNK活性は低下している。インターフェロン, 細菌アジュバント, Poly I:CなどがNK活性を助長する。ヌードマウスにも強いNK活性を認めるが, ベージュマウスでは非常に低い。

初期にはC型ウイルス誘導腫瘍細胞を標的細胞とした為, ウイルス抗原が標的細胞と関連づけて考えられていた。しかし, マウスのNK細胞がヒトやラットの細胞および自己の胸腺細胞に対しても傷害性を示すことよりウイルス抗原と関係なく働くことが判明した¹²⁾。

NK細胞が白血病細胞を標的細胞として, 4時間後の³H-Prolineの取り込み抑制で細胞傷害性を表すのに対し, 肉腫細胞を標的細胞として, 24時間後に細胞傷害性を示す細胞があり, NC細胞 (natural cytotoxic cell) と呼ばれてい

る。NK細胞の持つマーカーをNC細胞は持たず異った細胞であると考えられ, 固形腫瘍ではNC細胞が重要な働きをしている可能性がある¹³⁾。

(3) 活性化マクロファージ (M ϕ)⁹⁾

M ϕ は通常, 免疫系において次の役割を果す。
①外来異物 (抗原も含めて) を細胞内にとり込む。
②これを細胞内で処理して, 細胞膜表面に付着させた形で保ち, 抗原提供細胞 (antigen presenting cell) として働く。
③この抗原をT細胞やB細胞が認識する時, M ϕ 上のIa抗原も同時に認識することにより, 有効なリンパ球の活性化が生じる。Ia抗原は免疫応答遺伝子 (immune response gene, Ir遺伝子) により産生される。

このようなM ϕ がある種の刺激を受けると機能的に亢進し, 時に形態的变化を伴い, 細胞内酵素系が活発に働き, 活性化M ϕ と呼ばれるようになる。食細胞の機能亢進, プロテアーゼの分泌亢進などをもって活性化状態と呼ぶこともあるが, 最近では抗腫瘍作用を持つようになったM ϕ を活性化M ϕ と呼ぶことが多い。M ϕ がこのような抗腫瘍性を持つようになるにはT細胞による刺激 (MAF, Macrophage activating factor) が必要である。MAFはリンパ球の分泌する液性因子 (リンホカイン) の一種であり, 感作T細胞が再び抗原に接した時に分泌される。実際にM ϕ が活性化されるには二段階のシグナルが必要だと考えられている。第1段階としてプロテオースペプトンのような炎症性の刺激が必要であり, 次にMAFが働いてM ϕ が抗腫瘍性を獲得する¹⁴⁾。

活性化M ϕ が細胞を傷害するには, 腫瘍細胞と直接接触することが必要とされる。アルギナーゼ¹⁵⁾や過酸化水素¹⁶⁾が細胞傷害機構と密接な関係があると思われる。

Alexander等はラット肉腫を用いて, 組織内のM ϕ が多い程予後が良いと報告している¹⁷⁾。我々がヒト骨腫瘍^{18,19)}, マウス肉腫²⁰⁾で検索した結果はWood等²¹⁾あるいはSvennevig等²²⁾が報告している結果とはほぼ一致し, 腫瘍組織内

の F_c リセプター所有細胞の大部分は $M\phi$ であり、少数のリンパ球が含まれ、tumor associated macrophage は重要な免疫学的意義を持つことを示している。

〔2〕 悪性腫瘍の免疫療法

悪性腫瘍に対する治療として、外科的療法、化学療法、放射線療法について、免疫療法が用いられている。免疫療法は非特異的療法と特異的療法に分けられる。

A. 非特異的免疫療法

(1) 免疫賦活剤

代表的なものが細菌菌体アジュバントであり、BCG, BCG-CWS, OK-432 (ピシバニール), 丸山ワクチンなどがある。植物性多糖体としては、PSK (クレスチン) がよく用いられている。合成化合物も実用化の段階にあり、低分子のものには levamisole, tuftsin, cimetidine などがあり、高分子のものには pyran copolymer, poly I:C などがある。

(2) インターフェロン

α , β , γ 型があり、 γ 型インターフェロンに抗腫瘍性が期待されている。インターフェロンの作用機序としては、NK 細胞や $M\phi$ の機能促進、T 細胞の機能亢進、腫瘍細胞の増殖抑制作用が考えられている。

(3) サイモシン (thymosin)

T 細胞を分化成熟させる胸腺因子がそのホルモン作用を通じて抗腫瘍性を強化すると期待され肺癌患者に投与されて治験中である²³⁾。

(4) TNF

Old 一派²⁴⁾により発見された腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor, TNF) は、直接的に腫瘍細胞を攻撃すると共に、T 及び B リンパ球にも様々な影響を与えると報告されている。TNF は $M\phi$ により産生されるがそれには二段階の刺激が必要とされている。まず BCG など菌体成分による刺激、ついで LPS (lipopolysaccharide) による二次刺激を受けると $M\phi$ は TNF を産生する²⁵⁾。TNF は cytotoxic に作用し、細胞の分裂期に作用すると考えられている。

B. 特異的免疫療法

特異的免疫療法として、能動免疫療法と受動免疫療法が考えられる。癌ワクチンを用いる能動免疫療法にむかって、異物化癌細胞や融合癌細胞など不活化細胞の利用や、癌特異抗原の利用が考えられているが実用化までにはまだ遠い。受動免疫についてはいくつかの試みがなされているが、大きく分けて血清を用いて受動免疫を行う方法と、細胞を移入する方法とに分けられる。

(1) 同種抗体移入法

Gorer 等²⁶⁾がマウスにおいて同種抗体を投与して、増殖抑制を認めて以来、数多くの試みがなされてきたが、既に成立している腫瘍塊を治癒せしめることはできず、かえって、腫瘍の増殖を促す blocking effect²⁷⁾ も認められた。

(2) 異種抗体移入法

マウスにおいて癌特異抗原に対する抗体の投与は様々に試みられている。

ヒトへの投与は Murray²⁸⁾ により、ウマに免疫した抗ヒト癌抗血清が、233 人の転移を認める腫瘍患者に投与されたが成績は良くなかった。Sumner²⁹⁾ 等は自然治癒した悪性黒色腫患者の血清を他の患者に移入し、2 例中 1 例に著効を認めたと報告している。

(3) 単クローン抗体移入法

Köhler と Milstein により報告されたモノクローナル抗体の作製法は確立し、ヒト悪性腫瘍をはじめとして、多数のヒト腫瘍関連抗原に対するモノクローナル抗体が作成されている。腫瘍抗原に特異的で高価な抗体を大量に得られるという利点がある反面、マウス脾細胞を免疫して作成している為、反復投与がアレルギー反応を生じる可能性がある。又、単一抗原に対する抗体である為、antigenic modulation に弱い点がある。Miller 等³⁰⁾は B 細胞リンパ腫に対し、その細胞表面免疫グロブリンのイディオタイプに対する抗体を投与し、症状の寛解をみたと報告している。

(4) 細胞移入法

腫瘍細胞に対して抑制的に働くのは主として

T細胞, NK細胞, $M\phi$ などの宿主細胞群である。これらの細胞を移入して悪性細胞を傷害除去できれば最も効果的と思われる。臨床的にも既にいくつかの試みがなされている。Nadler等³¹⁾は進行癌の患者に対して, お互いに癌組織を移植し, 2週間後より毎日白血球を血液より分離して, 相手に移入した。154人に行って, 3例では完全に腫瘍が消失し, 23例で50%以上の退縮をみたが, 2例に他人の癌組織が生着し, 切除術を要したと報告している。Enneking等³²⁾(1975)は骨肉腫患者の切断肢より腫瘍組織を採り, 他の骨肉腫患者に移植した後, その白血球を分離して元の患者に移入する治療法を行っているが, 結果はあまり良いものではなかった。

これらのように, in vivo で白血球を感作増殖させるには, 他人に悪性腫瘍を移植せねばならず, モラルの面より限界がある。

Fenely等³³⁾は膀胱癌患者より癌組織を採り, ブタに移植した後, ブタのリンパ球を各々の患者に動脈内注入(異種免疫リンパ球移入)を行い, 25例に試みているが, 結果は予想通り, 治癒につながる治療法では無かった。

(5) in vitro 感作T細胞移入法

自己のリンパ球を培養系で増殖かつ感作し, 再び自己体内に移入するという方法は, 人道的な抵抗も無く, 自己のリンパ球を, 何回も大量に利用できるという点で, 最も良い方法と考えられる。更に, interleukin 2 (IL-2, T細胞増殖因子)が発見され, これを利用して感作T細胞を in vitro で増殖できるようになった為将来の発展が期待される。動物実験の系では完全な治癒をもたらす治療法も Cheever等^{34,35)}により報告されているのでこれを要約する。

Friend virus により発癌させたマウス白血病細胞 FBL-3 の 5×10^6 個を C57BL マウスの腹腔内に移植すると, 16日までに全て死亡し, 平均生存日数は11日である。抗癌剤であり, suppressor T リンパ球の抑制効果もある cyclophosphamide^{36,37)}を腫瘍移植5日後に 180mg/kg 投与すると平均生存日数 (MSD) は24日に

延長する。cyclophosphamide を投与し, 6週間後に immune cell を移入すると更に生存日数は dose dependent に延長する。すなわち, 10,000 rad irradiation を行った 2×10^7 個の FBL-3 (死細胞)で免疫し, 6週間後に追加免疫した後, 脾臓より採取した細胞 (immune cell) を培養系で増殖し, 2.5×10^6 個を移入した群では MSD 38日, 5×10^6 個では49日, 1×10^7 個では更に MSD が延び, 16匹中の11匹を cure できる。1,200 rad の照射を行った immune cell 5×10^6 個 (この量の放射線により, 95%の T-cell は72時間以内に死亡するが, この間抗腫瘍活性は十分に発揮する) を移入した群では MSD は30日と, 生細胞の移入より悪い結果となる。一方, 精製した IL-2 を5日間にわたってマウスに投与すると, 1,200 rad 照射の immune cell 5×10^6 個移入の同じ条件でも MSD は47日で16匹中の11匹を cure する (80日の生存をもって cure としている) 白血病細胞の投与5日後には全身に播種され肝臓や脾臓への転移も認められる為, ヒトにおける悪性腫瘍診断時の状況に類似していると考えられる。ヒトにおいても大部分の悪性腫瘍において, 診断時には既に微小転移が存在し, 同じ状況にあるマウスでないとモデルにならない。この点で Cheever の実験は, ヒトと酷似した条件で行った chemoimmunotherapy が有効に働き, 高頻度に治癒に導くことができたのは, 人間への応用の可能性を示したものとして評価できる。

悪性腫瘍に対する治療は現在, (1)外科的療法, (2)化学療法, (3)放射線療法, (4)免疫療法の順で行われている。外科的療法においても, 患肢や残存機能の温存が図られ, 化学療法と免疫療法の組み合わせ, 術中放射線療法など様々な改良が加えられているが, adoptive immunotherapy は癌治療に新しい局面を開くものとして期待されている。

REFERENCES

- 1) Foley, E. J.: Antigenic properties of methyl cholanthrene induced tumors in mice of the

- strain of origin. *Cancer Res.* 13 : 835-837, 1953.
- 2) Thomas, L.: Discussion. In *Cellular and Humoral Aspects of the Hypersensitive States*, ed. Lawrence, H.S., pp.529-548, Hoeber-Harper, New York, 1959.
- 3) Burnet, F.M.: *Immunological Surveillance*. p. 280, Pergamon Press, Sydney, 1970.
- 4) Herberman, R.B.: Immunologic approaches to the diagnosis of cancer. *Cancer* 37 : 549-561, 1976.
- 5) Plata, F.: Specificity studies of cytolytic T lymphocytes directed against murine leukemia virus-induced tumors. *J. Exp. Med.* 155 : 1050-1062, 1982.
- 6) Gautam, S. & Deodhar, S.D.: Subsets of oncofetal antigen-induced T-cells: Ability to mediate antitumor immune response. *J. Nat. Cancer Inst.* 70 immune response. *J. Nat. Cancer Inst.* 70 : 923-930, 1983.
- 7) Zarling, J.M., Robins, H.I., Raich, P.C., Bach F.H. & Bach, M.L.: Generation of cytotoxic T lymphocytes to autologous human leukemia cells by sensitisation to pooled allogeneic normal cells. *Nature* 274 : 269-271, 1978.
- 8) Herberman, R.B., Nunn, M.E. & Levin, D.H.: Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic and allogeneic tumors. 1. Distribution of reactivity and specificity. *Int. J. Cancer* 16 : 216-229, 1975.
- 9) Evans, R. & Alexander, P.: Mechanism of immunologically specific killing of tumor cells by macrophages. *Nature* 236 : 168-170, 1972.
- 10) Herberman, R.B., Nunn, M.E., Holden, H.T. & Levin, D.H.: Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic and allogeneic tumors. 2. Characterization of effector cells. *Int. J. Cancer* 16 : 230-239, 1975.
- 11) Seaman, W.E., Blackman, M.A., Gindhart, T.D., Roubinian, J.R., Loeb, J.M. & Talal, N.: β -Estradiol reduces natural killer cells in mice. *J. Immunol.* 121 : 2193-2198, 1978.
- 12) Hansson, M., Kiessling, R.M., Anderson, B., Karre, K. & Roder, J.: NK cell-sensitive T-cell subpopulation in thymus: inverse correlation to host NK activity. *Nature* 278 : 174-176, 1979.
- 13) Stutman, O., Paige, C.J. & Figarella, E.F.: Natural cytotoxic cells against tumors in mice. *J. Immunol.* 121 : 1819-1826, 1978.
- 14) Unanue, E.R.: Secretory function of mononuclear phagocytes. *Amer. J. Pathol.* 83 : 395-418, 1976.
- 15) Currie, G.A.: Activated macrophages kill tumour cell by releasing arginase. *Nature* 273 : 758-759, 1978.
- 16) Nathan, C.F., Brunkher, L.H., Silverstein, S.C. & Cohn, Z.A.: Extracellular cytolysis by activated macrophages and granulocytes. *J. Exp. Med.* 149 : 84-99, 1979.
- 17) Eccles, S.A. & Alexander, P.: Macrophage content of tumors in relation to metastatic spread and host immune reaction. *Nature* 250 : 667-669, 1974.
- 18) Kasahara, K., Yamamuro, T. & Kasahara, A.: Giant-cell tumours of bone: cytological studies. *Br. J. Cancer* 40 : 201-209, 1979.
- 19) 笠原勝幸, 山室隆夫, 濱島義博: 骨巨細胞腫組織中の宿主由来細胞について, 臨床整形外科15 : 1016~1023, 1980.
- 20) 笠原勝幸, 山室隆夫, 笠原朱美, Nisbet, N.W.: 実験的骨肉腫組織中のマクロファージについて, 中部日本整形外科学会雑誌24 : 1123~1125, 1981.
- 21) Wood, G.W. & Gollahan, K.A.: Detection and quantitation of macrophage infiltration into primary human tumors with the use of cell-surface markers. *J. Natl. Cancer Inst.* 59 : 1081-1087, 1977.
- 22) Svennevig, J., Lovik, M. & Svaar, H.: Isolation and characterization of lymphocytes and macrophages from solid, malignant human tumours. *Int. J. Cancer* 23 : 626-631, 1979.
- 23) Cohen, M.H., Chretien, P.B. & Ihde, D.C.: Thymosin fraction V and intensive combination chemotherapy. *J. A. M. A.* 241 : 1813-1815, 1979.

- 24) Carswell, E. A., Old, L. J., Kassel, R. L., Green, S., Fiore, N. & Williamson, B.: An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 72 : 3666-3670, 1975.
- 25) Matthews, N.: Tumour-necrosis factor from the rabbit. II. Production by monocytes. *Br. J. Cancer* 38 : 310-315, 1978.
- 26) Gorer, P. A. & Amos, D. B.: Passive immunity in mice against C57BL leukemia E.L. 4 by means of isoimmune serum. *Cancer Res.* 16 : 338-343, 1956.
- 27) Moller, G.: Effect on tumour growth in syngeneic recipients of antibodies against tumour-specific antigens in methylcholanthrene-induced mouse sarcomas. *Nature* 204 : 846-847, 1964.
- 28) Murray, G.: Experiments in immunity in cancer. *Can. Med. Assoc. J.* 79 : 249-259, 1958.
- 29) Sumner, W. C. & Foraker, A. G.: Spontaneous regression of human melanoma. *Cancer* 13 : 79-81, 1960.
- 30) Miller, R. A.: Treatment of B-cell lymphoma with monoclonal anti-idiotypic antibody. *N. Engl. J. Med.* 306 : 517-552, 1982.
- 31) Nadler, S. H. & Moore, G. E.: Immunotherapy of malignant disease. *Arch. Surg. (Chicago)* 99 : 376-381, 1969.
- 32) Neff, J. R. & Enneking, W. F.: Adoptive immunotherapy in primary osteosarcoma. *J. Bone Joint Surg.* 57-A : 145-148, 1975.
- 33) Fenely, R. C., Eckert, H., Riddell, A. G., Symes, M. O. & Tribe C. R.: The treatment of advanced bladder cancer with sensitized pig lymphocytes. *Br. J. Surg.* 61 : 825-827, 1974.
- 34) Cheever, M. A., Greenberg, P. D. & Fefer, A.: Specificity of adoptive chemoimmunotherapy of established syngeneic tumors. *J. Immunol.* 125 : 711-714, 1980.
- 35) Cheever, M. A., Greenberg, P. D., Fefer, A. & Gills, S.: Augmentation of the anti-tumor therapeutic efficacy of long-term cultured T lymphocytes by in vivo administration of purified interleukin 2. *J. Exp. Med.* 155 : 968-980, 1982.
- 36) Hengst, J. C. D., Mokyr, M. B. & Dray, S.: Importance of timing in cyclophosphamide therapy of MOPC-315 tumor-bearing mice. *Cancer Res.* 40 : 2135-2141, 1980.
- 37) Mokyr, M. B., Hengst, J. C. D. & Dray, S.: Role of antitumor immunity in cyclophosphamide-induced rejection of subcutaneous non-palpable MOPC-315 tumors. *Cancer Res.* 42 : 974-979, 1982.